

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-66279

(P2001-66279A)

(43) 公開日 平成13年3月16日 (2001.3.16)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 27/327		G 0 1 N 27/30	3 5 3 Z
27/26	3 7 1	27/26	3 7 1 Z
27/28	3 3 1	27/28	3 3 1 Z
27/30		27/30	Z
27/416		33/483	F

審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全 6 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-228240(P2000-228240)
(22) 出願日 平成12年7月28日(2000.7.28)
(31) 優先権主張番号 09/366269
(32) 優先日 平成11年8月2日(1999.8.2)
(33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 391007079
バイエルコーポレーション
アメリカ合衆国、インディアナ州、46514、
エルクハート、マイルス・アベニュー
1884
(72) 発明者 マシュー・ケー・ムショー
アメリカ合衆国、インディアナ州、46530、
グレンジャー、ノース・フェザント・コー
プ・ドライブ 10648
(74) 代理人 100078662
弁理士 津国 肇 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改良された電気化学的センサ設計

(57) 【要約】

【課題】 不十分な試料しか電極に接触しなかった場合にそれを積極的に使用者に知らせる電気化学的センサの提供。

【解決手段】 参照電極を二つに分け、試料が該二つに分けた参照電極の一方にしか接触していない場合に、不十分な試料であるとして使用者に知らせる電気化学的センサ。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 流体試料中の分析対象物の濃度を検出するための電気化学的センサであって、

- 1) 電流検出器と電気的に通じた作用電極と参照電極とを表面に有する、流体試料流路を提供するベースと、
- 2) 分析対象物と反応して、該作用電極に移送される電子を生成する酵素を含む、該作用電極表面上の反応層と、
- 3) 該ベース部材と合わさると、流体試料を導入するための開口を有する毛管空間を形成するカバーと、を含み、該毛管空間が、該参照電極および該作用電極が位置する該流体試料流路を含み、該参照電極の大部分が該作用電極から該開口の下流に位置し、該参照電極のサブエレメントが該作用電極の上流にあり、サブエレメントと作用電極との間でのみ電気的導通が起これば、該流体試料中の分析対象物の濃度の有効な試験を成り立たせるには不十分な電流が該検出器中を流れるようになっており、該検出器が、このような不十分な電流の場合にエラー信号を発するように事前にプログラムされているセンサ。

【請求項 2】 該参照電極と該サブエレメントとが物理的に接続している、請求項 1 記載のセンサ。

【請求項 3】 該カバーが、変形するとその中央部分に凹形区域を提供する変形性材料でできており、該カバーを該ベース部材と合わせると、該カバーと該ベース部材が、開口を有する該毛管空間を形成するようになっている、請求項 1 記載のセンサ。

【請求項 4】 該毛管空間に通じる該開口が該カバーまたは該ベース部材のみを通過する、請求項 1 記載のセンサ。

【請求項 5】 該開口が該カバーのみを通過する、請求項 4 記載のセンサ。

【請求項 6】 該ベースおよび該カバーが、合わさると開口を形成するように構成されている、請求項 1 記載のセンサ。

【請求項 7】 該カバーと該ベースとの間に U 字形の部材があり、該 U 字形部材が間にある状態で該カバーと該ベースとを合わせることによって開口が形成されるようになっている、請求項 6 記載のセンサ。

【請求項 8】 該カバーが凹形であり、該開口が、該ベースを該凹形のカバーと合わせることによって形成される、請求項 6 記載のセンサ。

【請求項 9】 該反応層中の該酵素が親水性ポリマーと組み合わされている、請求項 1 記載のセンサ。

【請求項 10】 該酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項 1 記載のセンサ。

【請求項 11】 該作用電極の大部分が誘電材料によって覆われて、その小さな部分を該試験流体にさらし、該参照電極の該大部分が該作用電極の該露出部分から下流（流路に沿って流体が流れる方向を基準にして）に位置

している、請求項 1 記載のセンサ。

【請求項 12】 該参照電極の該サブエレメントが該参照電極の該主要素に物理的に接続しておらず、該サブエレメントがそれ自体の接続要素によって該検出器に接続している、請求項 1 記載のセンサ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【従来技術】本発明は、液体試料中の特定成分（分析対象物）の計量に使用することができる電気化学的バイオセンサに関する。考慮されるタイプの電気化学的バイオセンサは、米国特許第 5, 120, 420 号および第 5, 264, 103 号明細書に開示されている。これらの試験具は、炭素電極がプリントされた絶縁ベースを有し、それらの電極は、分析対象物に特異的なオキシドレダクターゼと組み合わせられた親水性ポリマーを含む試薬層で覆われている。これらの特許は、典型的に、略 U 字形の部品であるスペーサ要素と、カバーピースとを含み、ベース、スペーサ要素およびカバーピースが積層されると、試薬層によって覆われた電極を含む毛管空間が形成されるようになっている。オキシドレダクターゼに加えて、電子受容体が試薬層または毛管空間内の別の層に含まれる。水性試験流体を毛管空間に引き込みやすくするため、親水性ポリマー、たとえばカルボキシメチルセルロースが使用されている。

【0002】米国特許第 5, 141, 868 号明細書には、電極が毛管空間内に含まれる別のセンサが開示されている。この参考文献は、ベースと、ベースに被着されるカバープレートとを合わせて、流体試料、たとえば血液を引き込むための毛管空間を形成することによってセンサを製造する方法を記載している。この設計に代わるものが米国特許第 5, 798, 031 号明細書に開示されており、センサは、融着されると毛管空間を形成する 2 個の部品、すなわちベースおよび凹形の蓋で構成されている。いずれの実施態様でも、作用電極および参照電極がベース上にスクリーンプリントされ、これらの電極が電気接続され、それらの間に電位が発生すると、電気化学的に発生する電流が流れるようになっている。

【0003】これらの装置は、U 字形のスペーサ要素を間に挟んだ状態で積層されるベースプレートおよび蓋を有し、U 字形の部分が開口してベースとカバーとの間に毛管空間を提供するようになっている。センサの側面の開口を試験流体、たとえば血液の滴に触れさせると、その血液は毛管空間に引き込まれ、その結果、作用電極表面の反応層を覆う。オキシドレダクターゼとの酵素反応が、媒体、たとえばフェリシアン化物によって作用電極に運ばれ、作用電極を通過して、電流の大きさを計測する計器に達する電子の流れを生じさせる。参照電極はいくつかの目的に役立つ。第一に、作用電極が制御されるときに照らされる固定電位を提供する。第二に、2 電極系、たとえば図 1 および 2 に示す系の場合、電気回路を

完成させるために利用される。この形態では、作用電極に移送される各電子が参照電極側の試験溶液に戻される。装置のソフトウェアは、この電流の大きさを試料中の分析対象物の濃度と相関させるようにプログラムされている。この電流を流すためには、両電極を導電性試験流体で覆い、それらの間に電位を印加することによって完全な回路を形成する。

【0004】この種のセンサにときどき伴う問題は、不十分な量の血液しか開口に適用されず、その結果、参照電極および作用電極が試料で完全には覆われず、電極間を流れる不完全な電流を生じさせるときに生じる。センサによって検出される分析対象物、たとえばグルコースの量は、検出計器の中を流れる電流に正比例するため、センサの電極を完全に覆うことができないと、血液試料のグルコース濃度の読みを人為的に低くするおそれがある。この適用不足問題を扱う一つの技術が、試料の量が少なすぎて正確な読みを提供することができない場合には応答が検出されないようにするための機構を含む米国特許第5,628,890号明細書に開示されている。この試験具は、試料適用点から試料を指向的に流すための試料移送経路を画定する細長い電極支持体を含む試験片を含む。作用電極が試料移送経路に配置され、カウンタまたは参照電極が、試料移送経路中、作用電極から下流に配置される。血液試料が作用電極を完全には覆うことができないならば、電流が流れることができる閉回路の不在により、読み取り機構から応答は得られない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】不十分な試料しか電極に接触しなかった場合、それを積極的に使用者に知らせる電気化学的センサを提供することが望ましく、それが本発明の目的である。そのような通知を受けると、使用者は、正確な読みを得ることができず、センサを捨てて新品に代えるべきであることを知る。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、流体試料、たとえば血液中の分析対象物、たとえばグルコースの濃度を検出するための電気化学的センサである。本センサは、

- 1) 電流検出器と電気的に通じた作用電極と参照電極とを表面に有する、流体試料の流路を提供するベースと、
- 2) 分析対象物と反応して、作用電極に移送される電子を生成する酵素を含む、作用電極表面上の反応層と、
- 3) ベース部材と合わさると、流体試料を導入するための開口を有する毛管空間を形成するカバーと、を含む。毛管空間は、参照電極および作用電極が含まれる流体試料の流路を包囲する。これらの電極は、ベース上で開口に対して位置し、参照電極の大部分が作用電極から開口の下流に位置するようになっている。参照電極は、作用電極の上流に位置するサブエレメントを含み、流体試料による毛管空間の不完全な充填によって参照電極のサブ

エレメントと作用電極との間でのみ電気的導通が起こると、流体試料中の分析対象物の濃度の有効な試験を成り立たせるには不十分な電流が検出器中を流れるようになっている。このような不十分な電流の場合、検出器がエラー信号を発して、試験が失敗であり、やり直すべきであることを使用者に知らせる。

【0007】

【発明の実施の形態】本発明が関連する電気化学的センサの構造を図1に示す。センサ34は、絶縁ベース36で構成され、このベースの上に、順に、導体パターン38、電極パターン39および40、絶縁（誘電）パターン42ならびに反応層44が通常、スクリーンプリント技術によってプリントされている。反応層の機能は、グルコースまたは流体試料中の別の分析対象物を化学量論的に化学種に転換することである。この化学種は、電極パターンの成分により、それが発生する電流に換算して電気化学的に計測可能である。反応層は通常、分析対象物と反応して電極パターン上に可動性電子を生成する酵素と、可動性電子を作用電極の表面に運ぶための電子受容体、たとえばフェリシアン化物塩とを含有する。反応層中の酵素は、親水性ポリマー、たとえばポリ（エチレンオキシド）と組み合わせることができる。電極プリントの2個の部品39および40は、本発明の要点である分析対象物の電気化学的測定に必要な作用電極39および参照電極40を提供する。作用電極および参照電極は、参照電極の大部分が作用電極39aの露出部分から下流（流路に沿って流体が流れる方向を基準にして）に位置するような方法で構成されている。この構造は、検出されない不十分な充填が起こったすべての場合に試験流体が作用電極の露出部分を完全に覆うことを許す利点を提供する。しかし、参照電極のサブエレメント40aは、作用電極上要素39aから上流に配置され、作用電極を完全に覆うのには不十分な量の流体、たとえば血液が毛管空間に入ると、血液試料の導電性により、参照電極サブエレメント40aと作用電極上部39aの露出部分との間に電気接続が形成されるようになっている。しかし、血液試料による接触に利用しうる参照電極の面積は小さいため、非常に弱い電流しか両電極の間、ひいては電流検出器の中を通過することができない。電流検出器を、それが受けた信号が所定レベルに満たないときにはエラー信号を発させるようプログラムすることにより、本発明のセンサ試験具は、不十分な血液しかセンサのキャピティに入っておらず、もう一回試験を実施すべきであることを使用者に積極的に忠告する。電極の具体的な寸法は重要ではないが、参照電極のサブエレメントの面積は通常、作用電極の面積の約10%未満であり、好ましくは約6%未満である。この要素は、スクリーンプリント法の制約を考慮して、できるだけ小さく作られる。また、反応層44をカウンタ電極のサブエレメント40aと接触させないことも考えられる。これは、参照

電極サブエレメント 40b の上には試薬インクをプリントせず、サブエレメントに試薬を渴望させる目的を果たし、それにより、サブエレメントが正しい参照電極として機能することを許さないスクリーンを製造することによって達成され、その結果、試験流体が参照電極 40 の大部分と接触することができない場合にエラー条件が達成される。サブエレメント 40a は、参照電極 40 に物理的に接続し、したがってその一部であるとして描写されているが、そのような物理的接続は重要ではない。そのようなサブエレメントは、それ自体のコネクタを備え、センサが検出器への第三の接点を備えるならば、参照電極の残り部分から物理的に切り離すこともできる。

【0008】プリント電極の 2 個の部分 39 および 40 が、分析対象物の電気化学的測定に必要な作用電極および参照電極を提供する。厚さ約 14μ (0.00055 インチ) である電極インクは、通常、電気化学的に活性な炭素を含有する。導体インクの成分は、電極と、電極がセンサ 45 の尾ビレ状端部の導電パターンとの接触を介して動作的に接続する計器との間に低化学抵抗路を提供するように選択される、炭素と銀の混合物である。参照電極は銀/塩化銀からなることもできるが、炭素が好ましい。誘電パターンの機能は、電極パターンの中央に近い画定区域を除き、電極を流体試料から絶縁して、計器読みの再現精度を高めることである。計測される電流は、分析対象物の濃度と、分析対象物含有試料にさらされる反応層の面積の両方に依存するため、画定区域はこのタイプの電気化学的測定に重要である。典型的な誘電層 42 は、厚さ約 10μ (0.0004 インチ) である UV 硬化アクリレート改質ポリメタンを含む。凹形空間 48 を提供し、通常は変形性材料の平坦なシート材を型押しすることによって形成される蓋 46 は、通気口 50 を設けるために穿孔され、シール処理でベース 36 に接合される。蓋とベースは、まずベースと蓋を整合させたのち、振動ヒートシール部材もしくはホーンと固定あご (stationary jaw) との間でプレスする音波溶接によってシールすることができる。ホーンは、型押しされていない平坦な蓋の領域とでのみ接触が起こるような形状である。金属ホーンに振動を励起するには、クリスタルまたは他の変換器からの超音波エネルギーを使用する。この機械的エネルギーがプラスチック接合部で熱として放散されて熱可塑性材料の接合を可能にする。型押しした蓋とベースはまた、蓋の下面に接着剤を使用することによって接合することもできる。蓋とベースを接合する方法は、引用例として本明細書に含める米国特許第 5,798,031 号明細書に詳細に記載されている。

【0009】絶縁ベースに適した材料は、ポリカーボネート、ポリエチレンテレフタレートならびに寸法安定性のビニルおよびアクリルポリマーならびにポリマーブレンド、たとえばポリカーボネート/ポリエチレンテレフタレートならびに金属箔構造、たとえばナイロン/アル

ミニウム/ポリ塩化ビニル積層体を含む。蓋は通常、変形性ポリマーシート材、たとえばポリカーボネートまたは型押し等 (embossable grade) 級のポリエチレンテレフタレート、グリコール改質ポリエチレンテレフタレートまたは金属箔組成物、たとえばアルミニウム箔構造から製造される。誘電層は、UV 光もしくは水分によって硬化させることができるアクリレート改質ポリウレタンまたは熱硬化性であるビニルポリマーから製造することができる。

【0010】

【実施例】以下の例にしたがって本発明のセンサを構築する。典型的にポリカーボネートのベースストックに種々のインクでプリントして電極 39 および 40 を形成したのち、誘電層 42 を、流体試料が蓋 46 とベース 36 との嵌め合いによって形成される空間に入るとき流体試料との接触にさらされる電極の所望の面を残すように設計された所定のパターンでオーバコートする。開口 43 が試薬層を電極 39 および 40 と電気的に通じた状態に残す、図 1 に示す具体的な誘電層 42 の構造は、すべての導電要素 (作用電極、参照電極およびサブエレメント電極) が試験流体にさらされる範囲を画定するように設計されている。プリントされた導電造作とともに、誘電層は、それらの要素それぞれの大きさを決定する。電極は、好ましくは、導電層および誘電層が互いに対して 90° に近づくようにプリントされる。これは、センサを構築するための公差スタックアップ (tolerance stackup) に役立つ。理由は、いずれかのプリントが要素の周囲で移動しても画定は一定のままであるため、これが整合問題を軽減するからである。本発明のセンサベースはまた、ベース上の全要素を同一面上に示す図 2 にも示されている。センサのベース 36 は、導電性要素 38 をその表面に有し、この要素は逆に作用電極 39 および参照電極 40 でオーバコートされている。誘電層 42 は図示されていないが、代わりに、作用電極 39 および参照電極 40 の露出部分を示すため、誘電層中の開口 43 が示されている。参照電極の大きい方の部分と電気的に通じている参照電極のサブエレメント 40b は、この実施態様では、流体が作用電極に達したとき検出することができるよう、作用電極とで導電路を提供するように機能する。試験シーケンスを開始するのに十分な電流が提供される。試験流体がセンサキャビティを充填することができず、参照電極の大部分に接することができないならば、エラー状態が検出され、装置の使用者に伝達される。

【0011】本発明のセンサは、展開されると平坦な面を提供するポリカーボネートのロールシートから数多く製造される。このシートは、多数の蓋の供給源として働くため、蓋ストックと呼ばれる。通常、熱可塑性接着剤の層を蓋ストックの下面に配置したのち、凹形区域 48 (図 1) をポリカーボネートシート中に型押しし、種々

の穴をシートに打ち抜いて通気口50ならびに整合およびトラッキングのため穴を設けたのち、蓋ストックのスリットリボンを巻き上げる。通常はポリカーボネートのベースストックに種々のインクでプリントして電極を形成したのち、誘電層を、誘電層上にプリントされる反応層44にさらされる電極の所望の面を残すように設計された所定のパターンでオーバコートする。

【0012】本発明は、充填不足の場合、結果がどっちつかずの応答（すなわち検出器が何の信号も発しない）ではなく、積極的な応答を出すように参照電極および作用電極を構成することができる電気化学的センサを提供する利点を導く。したがって、毛管空間に入る試験流体の量が参照電極のサブエレメント40aまたは好ましい実施態様では40bと、参照電極40の主部から上流に位置する作用電極の部分39aとを覆うのに十分であるとき、検出器は電流を感知するが、その電流は、作用電極および参照電極が試験流体で完全に覆われた場合よりも弱いであろう。検出器は、読み取り手段と接続されて、充填不足の発生を使用者に警告するエラー信号を発することができる。エラー状態が発生したかどうかを決定するために絶対電流レベルとともに使用される特定の電流特性を時間的に感知するための手段が設けられる。これは、試験流体が参照電極のサブエレメントを作用電極と電気的に接続したのち一定期間の電流を計測することによって充填不足を検出するよう計器をアルゴリズム的にプログラムすることによって達成される。2回の計測の電流の比を使用して、センサが正しく充填されたかどうかを決定する。たとえば、駆動電位を回路に印加してから5秒後および10秒後に電流を計測し、これら二つの電流を比率に変換する。この比率および10秒での電流読みを使用して、センサの毛管空間が正しく充填されたかどうかを決定する。試料計算は次のとおりである。試験シーケンス中に電流計測を3回、すなわち、1) 駆動電位を10秒間印加したところの、バーンオフとして

$$k = \frac{\ln(I_{rs}) - \ln(I_{no})}{\ln(10) - \ln(5)} = \frac{\ln(656.5) - \ln(561.8)}{\ln(10) - \ln(5)} = 0.22$$

【0020】読み取り対バーン比

$$R/B = I_{r10} / I_{b10} = 561.8 / 505.1 = 1.11$$

【0021】これら二つのパラメータを使用して以下のエラー状態を検出した。

・このグルコースリードバックレベルで $k < 0.227$ または $k > 0.497$ $k = 0.22 < 0.227$ のため、真

・このグルコースリードバックレベルで $R/B < 0.263$ または $R/B > 1.263$

$R/B = 1.11 > 0.263$ かつ < 1.263 のため、偽

【0022】充填不足の場合に積極的な応答（どっち

知られる初期期間の終了時 (I_{b10} と呼ぶ)、2) 電位を印加するときの読み取り期間として知られる第二の期間中の5秒間 (I_{r5} と呼ぶ)、および3) 読み取り時間の終了時 (I_{r10} と呼ぶ) に実施する。図1を参照。三つの電流計測値から二つのパラメータを決定する。これらの二つのパラメータを使用して、センサの毛管空間が正しく充填されたかどうかを決定する。第一のパラメータは、電流時間曲線の形を描写する減衰係数である。第二のパラメータは、読み取り段階における電流レベルの減衰速度を特徴づける比率である。減衰係数 k は次式によって定義される。

【0013】

【数1】

$$k = \frac{\ln(I_{rs}) - \ln(I_{no})}{\ln(10) - \ln(5)} \quad \text{Eq. 1}$$

【0014】読み取り対バーン比 R/B は次式によって定義される。

$$R/B = I_{r10} / I_{b10} \quad \text{式2}$$

【0015】これらのパラメータを使用すると、充填不足の規準は次のとおりである。

(1) $k < 0.227$ または $k > 0.497$ の場合、あるいは

(2) $R/B < 0.263$ または $R/B > 1.263$ の場合

【0016】計算例は次のとおりである。

【0017】充填不足のセンサは、以下の三つの電流計測値を出した。

$$I_{b10} = 505.1 \text{ nA}, I_{r5} = 656.5 \text{ nA} \text{ および } I_{r10} = 561.8 \text{ nA}$$

【0018】電流計測値から減衰係数および読み取り対バーン比を計算した。減衰係数

【0019】

【数2】

$$k = \frac{\ln(I_{rs}) - \ln(I_{no})}{\ln(10) - \ln(5)} = \frac{\ln(656.5) - \ln(561.8)}{\ln(10) - \ln(5)} = 0.22$$

かずの応答とは違って) を出す試験具を提供することにより、使用者は、試験の放棄機能が、毛管空間に入る血液の不足の結果であり、何らか他の機能障害が異常な結果を生じさせたのではないことを認識する。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のセンサの分解図である。

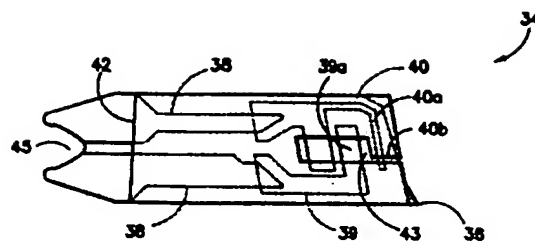
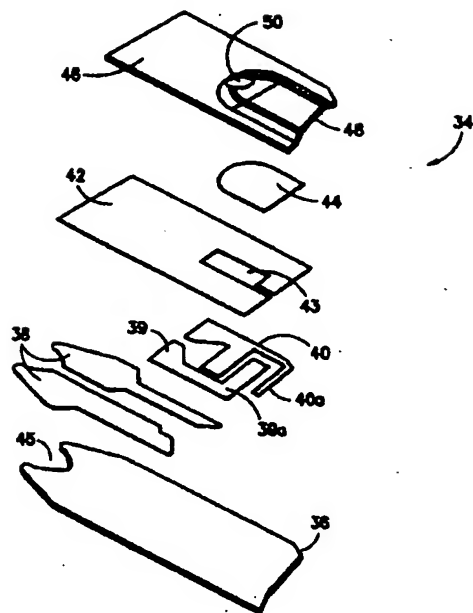
【図2】センサのベースと、同ベースに直接適用されているセンサの要素とを示す図である。

【符号の説明】

- 34 センサ
- 38 導電パターン
- 39 作用電極
- 40 参照電極

4 4 反応層
5 0 通気孔

【圖 2】



(51) Int. Cl. 7

Fi

テーマコード (参考)

G O 1 N 33/483
// G O 1 N 33/66

G O I N 33/66
27/30
27/46

A
 3 5 3 P
 3 3 8

(72) 発明者 ジェイ・オーキー・ノエル
アメリカ合衆国、インディアナ州、46530、
グレンジャー、キング・リチャーズ・ウェ
イ 50560

(72) 発明者 アンドリュー・ジェイ・エーデルブロック
アメリカ合衆国、インディアナ州、46530、
グレンジャー、ロデオ・コート 12354